



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2013년09월24일
(11) 등록번호 10-1309528
(24) 등록일자 2013년09월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61L 27/02 (2006.01) A61L 27/40 (2006.01)
A61F 2/28 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-0003443
(22) 출원일자 2013년01월11일
심사청구일자 2013년01월11일
(56) 선행기술조사문헌
KR101207873 B1*
KR1020080113013 A*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
군산대학교산학협력단
진라북도 군산시 대학로 558 (미룡동,
군산대학교)
(72) 발명자
장명철
진라북도 군산시 미룡동 베네스타아파트 106-1105
(74) 대리인
특허법인충현

전체 청구항 수 : 총 6 항

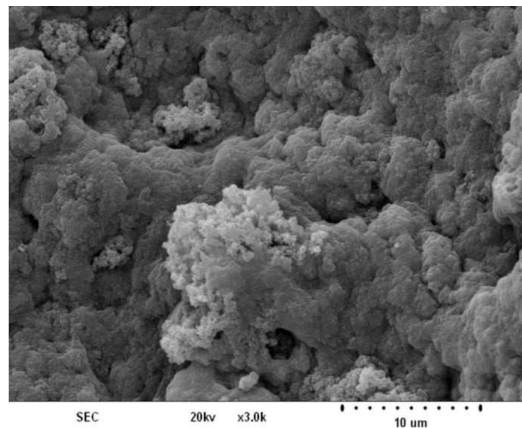
심사관 : 정재철

(54) 발명의 명칭 골 조성물의 제조방법, 이로써 제조된 골 조성물 및 이를 포함하는 인공골

(57) 요약

본 발명은 골 조성물에 관한 것으로서, 이를 제조하는 방법은 이산화탄소 비함유 분위기에서, 칼슘 수용액; 인산; 담체물질; 및 결합조절물질;의 혼합물을 공침시키는 단계를 포함하는 것을 일 특징으로 한다. 본 발명에 따르면 체내에 이식되었을 때 높은 기계적 강도와 화학적 안정성을 제공하며, 골재생성(osteoconductivity)이 높고, 생물체 뼈조직과 유사한 다공질을 나타내어 인공골 등으로 적용되었을 때 우수한 품질을 나타내는 골 조성물을 제조 및 이용할 수 있을 뿐만 아니라, 이를 포함하는 인공골은 체내 이식 또는 골접합 시술에 있어서 현저히 개선된 활용도와 품질을 나타낸다.

대표도 - 도5



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 10B10415110

부처명 교육과학기술부

연구사업명 하반기 일반연구자 사업, 기본연구 유형 I

연구과제명 삼차원배열다공성[3DOMm] 구조 산화물 마크로, 메소분말 제조

주관기관 군산대학교 산학협력단

연구기간 2010.09.01 ~ 2013.08.31

특허청구의 범위

청구항 1

이산화탄소 비함유 분위기에서, 칼슘 수용액; 인산; 젤라틴, 콜라겐, 콘드로이친황산 및 글리코사미노글리칸으로 이루어지는 군에서 선택된 1 종 이상의 담체물질; 및 키토산, 텍스트린, 폴리비닐 아크릴레이트(PVA), 폴리 아크릴아마이드(PAA) 및 폴리메틸 메타크릴레이트(PMMA)로 이루어지는 군에서 선택된 1 종 이상의 결합조절물질;의 혼합물을 pH 6.5 내지 8.5에서 공침시켜 유무기 복합체를 제조하는 단계; 및

상기 공침으로부터 생성된 유무기 복합체를 이산화탄소 비함유 분위기에서, 여과 또는 건조시키는 단계;를 포함하고,

상기 유무기 복합체는 Ca 및 P를 포함하는 화합물, 담체물질 및 결합조절물질을 포함하여 이루어지며,

상기 Ca 및 P를 포함하는 화합물은 하이드록시아파타이트(HAp)를 포함하고, 상기 하이드록시아파타이트(HAp)와 함께 β-트리칼슘포스페이트, 무수 디칼슘 포스페이트(CaHPO₄, DCPA), 테트라칼슘 디하이드로겐 포스페이트 (Ca₄H₂P₆O₂₀, TTCP) 및 디칼슘 포스페이트 디하이드레이트(CaHPO₄·2H₂O, DCPD)로 이루어지는 군에서 선택된 1 종 이상의 물질을 포함하는 혼합물이고,

체내에 이식되었을 때 체액에 의해 탄산화되는 유무기 복합체를 포함하는 골 조성물의 제조방법.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 이산화탄소 비함유 분위기는 불활성기체 분위기 또는 진공 상태인 것을 특징으로 하는 골 조성물의 제조방법.

청구항 3

삭제

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 공침시키는 단계는 35 내지 50 °C에서 수행되는 것을 특징으로 하는 골 조성물의 제조방법.

청구항 5

제1항에 있어서,

상기 칼슘 수용액은 칼슘이 과포화된 것을 특징으로 하는 골 조성물의 제조방법.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 칼슘 수용액은 산화칼슘의 수용액인 것을 특징으로 하는 골 조성물의 제조방법.

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

청구항 제1항, 제2항 및 제4항 내지 제6항 중 어느 한 항의 방법으로 제조된 골 조성물을 포함하는 것을 특징으로 하는 인공골.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 골 조성물의 제조방법, 이로써 제조된 골 조성물 및 이를 포함하는 인공골에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 체내에 이식되었을 때 높은 기계적 강도와 화학적 안정성을 제공할 뿐만 아니라 골재생성(osteoconductivity)이 높고, 생물체 뼈조직과 유사한 다공질을 나타내어 인공골 등으로 이용되었을 때 우수한 품질을 나타내는 골 조성물의 제조방법, 이로써 제조된 골 조성물 및 이를 포함하는 인공골에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 하이드록시아파타이트($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, 이하 HAp)는, 높은 생체적합성과 골 재생성(osteoconductivity)을 갖추어 치료용 골 대체제, 나아가 인공골의 기재로 매우 활발히 연구되어 왔다(W. B. BROWN, J. P. SMITH, J. R. REHR, A. W. FRAZIER, *Nature* **196** (1962) 1048., R. A.YOUNG, *Clinical Orthopedics* **113** (1975) 249-60., A. ASCENZI, G. H. BELL, in Bone as a Mechanical Engineering Problem, The Biochemistry and Physiology of Bone, Vol. 1 (Bone GH, editor. New York: Academic Press, 1972) pp. 311-52.). 뼈는 주성분으로 HAp 나노결정과 콜라겐 섬유를 포함하는 세포 외 매트릭스로서, 상기 HAp 나노결정은 상기 콜라겐 섬유의 방향과 나란히 배열된 결정축을 갖는다(B. B. DOYLE, *Biopolymers* **14** (1975;) 937., C. F. NAWROT, D. J. CAMPBELL, *J Dent Res* **56**(8) (1977)1017-22.).

[0003] 생체 내 조골반응을 모방하여, HAp 나노결정과 수용성 젤라틴 매트릭스를 공침법으로 반응시켜, 인공적인 골 대체제로서 HAp-삽입된 젤라틴 나노조성물을 제조하는 기술이 개발되어 종래에 공지된 바 있다(M. C.CHANG, CC KO, W. H. DOUGLAS, *Biomaterials* **24**(17) (2003) 2853-62., M. C. CHANG, W. H. DOUGLAS, J. TANAKA, *J Mater Sci: Mater Med* **17** (2006) 38796.).

[0004] 그러나 상기의 기술로서는 뼈를 대체할 수 있을 만큼 적합한 크기의 다공질을 구현하는데 많은 어려움이 따를 뿐만 아니라, 만족스러운 만큼의 기계적 강도를 구현할 수도 없다.

[0005] 생물체 뼈조직의 독특한 물성은, Ca 및 P 사이의 유기-무기 상호작용과, 콜라겐 섬유 또는 글루코사민 섬유와 같은 단백질 매트릭스의 특이적 구조에 기인한다. 따라서, 단백질 매트릭스, 칼슘 및 인을 포함하는 골 대체제의 품질은 뼈의 물리적 및 분자 구조를 얼마나 잘 모사하느냐, 그리고 여기에 얼마나 높은 기계적 강도를 구현할 수 있는냐에 달려있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0006] 본 발명이 해결하고자 하는 첫 번째 과제는, 체내에 이식되었을 때 높은 기계적 강도와 화학적 안정성을 제공할 뿐만 아니라 골재생성(osteoconductivity)이 높고, 생물체 뼈조직과 유사한 다공질을 나타내어 인공골 등으로 이용되었을 때 우수한 품질을 나타내는 골 조성물의 제조방법을 제공하는 것이다.
- [0007] 본 발명이 해결하고자 하는 두 번째 과제는, 상기 제조방법에 따라 제조되어 체내에 이식된 뒤 더욱 안정화되는 특성을 보유하고, 기계적 강도가 높으며, 골재생을 촉진하는 성질을 나타내는 골 조성물을 제공하는 것이다.
- [0008] 본 발명이 해결하고자 하는 세 번째 과제는, 상기 골 조성물을 포함함으로써 체내 이식 또는 골접합 시술에 있어서 현저히 개선된 활용도와 품질을 나타내는 인공골을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

- [0009] 본 발명은 상기 첫 번째 과제를 달성하기 위하여,
- [0010] 이산화탄소 비함유 분위기에서,
- [0011] 칼슘 수용액; 인산; 담체물질; 및 결합조절물질;의 혼합물을 공침시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 골 조성물의 제조방법을 제공한다.
- [0012] 본 발명의 일 실시예에 따르면,
- [0013] 상기 이산화탄소 비함유 분위기는 질소 분위기, 불활성기체 분위기 또는 진공 상태일 수 있다.
- [0014] 본 발명의 다른 실시예에 따르면,
- [0015] 상기 공침시키는 단계는 pH 6.5 내지 8.5에서 수행될 수 있다.
- [0016] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면,
- [0017] 상기 공침시키는 단계는 35 내지 50 °C에서 수행될 수 있다.
- [0018] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면,
- [0019] 상기 칼슘 수용액은 칼슘이 과포화된 것일 수 있다.
- [0020] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면,
- [0021] 상기 칼슘 수용액은 산화칼슘의 수용액일 수 있다.
- [0022] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면,
- [0023] 상기 담체물질은,
- [0024] 젤라틴, 콜라겐, 콘드로이친황산 및 글리코사미노글리칸으로 이루어지는 군에서 선택된 1 종 이상의 물질일 수 있다.
- [0025] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면,
- [0026] 상기 결합조절물질은,
- [0027] 키토산, 텍스트린, 폴리비닐 아크릴레이트(PVA), 폴리아크릴아마이드(PAA) 및 폴리메틸 메타크릴레이트(PMMA)로 이루어지는 군에서 선택된 1 종 이상의 물질일 수 있다.
- [0028] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면,
- [0029] 상기 공침으로부터 생성된 수득물을 여과 또는 건조시키는 단계를 더욱 포함할 수 있다.

- [0030] 본 발명은 상기 두 번째 과제를 달성하기 위하여,
- [0031] Ca 및 P를 포함하는 화합물; 담체물질; 및 결합조절물질;을 포함하고,
- [0032] 체내에 이식되었을 때 체액에 의해 탄산화되는 것을 특징으로 하는 골 조성물을 제공한다..
- [0033] 본 발명의 일 실시예에 따르면,
- [0034] 상기 Ca 및 P를 포함하는 화합물은,
- [0035] β -트리칼슘포스페이트, 무수 디칼슘 포스페이트(CaHPO_4 , DCPA), 테트라칼슘 디하이드로젠 포스페이트 ($\text{Ca}_4\text{H}_2\text{P}_6\text{O}_{20}$, TTCP), 하이드록시아파타이트(HAp) 및 디칼슘 포스페이트 디하이드레이트($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, DCPD)로 이루어지는 군에서 선택된 1 종 이상의 물질일 수 있다.
- [0036] 본 발명의 다른 실시예에 따르면,
- [0037] 상기 담체물질은,
- [0038] 젤라틴, 콜라겐, 콘드로이친황산 및 글리코사미노글리칸으로 이루어지는 군에서 선택된 1 종 이상의 물질일 수 있다.
- [0039] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면,
- [0040] 상기 결합조절물질은,
- [0041] 키토산, 텍스트린, 폴리비닐 아크릴레이트(PVA), 폴리아크릴아마이드(PAA) 및 폴리메틸 메타크릴레이트 (PMMA)로 이루어지는 군에서 선택된 1 종 이상의 물질일 수 있다.
- [0042] 본 발명의 또 다른 실시예에 따르면,
- [0043] 상기 결합조절물질의 함량은 1 내지 25 중량%일 수 있다.
- [0044] 본 발명은 상기 세 번째 과제를 달성하기 위하여,
- [0045] 상기 골 조성물을 포함하는 것을 특징으로 하는 인공골을 제공한다.

발명의 효과

- [0046] 전술한 바와 같이, 본 발명에 따르면 체내에 이식되었을 때 높은 기계적 강도와 화학적 안정성을 제공하며, 골재생성(osteoconductivity)이 높고, 생물체 뼈조직과 유사한 다공질을 나타내어 인공골 등으로 적용되었을 때 우수한 품질을 나타내는 골 조성물을 제조 및 이용할 수 있을 뿐만 아니라, 이를 포함하는 인공골은 체내 이식 또는 골접합 시술에 있어서 현저히 개선된 활용도와 품질을 나타낸다.

도면의 간단한 설명

- [0047] 도 1은 칼슘 수용액과 인산을 반응시켰을 때, pH 환경과 칼슘 농도환경에 따라 변화하는 물질들의 상평형 그래프이다.
- 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 제조방법의 모식도이다.
- 도 3은 본 발명에 따라 골 조성물을 제조하는 데에 사용될 수 있는 기재들의 예시 이미지이다.
- 도 4는 본 발명 실시예 및 비교예의 열적 분석(Thermal Analysis) 결과 그래프이다.
- 도 5는 본 발명 실시예의 투과전자현미경(TEM) 이미지이다.
- 도 6은 본 발명 실시예의 투과전자현미경(TEM) 확대 이미지이다.
- 도 7은 본 발명 실시예 및 비교예의 FTIR 측정 그래프이다.
- 도 8은 본 발명 실시예 및 비교예의 FTIR 측정 그래프이다.

도 9는 본 발명 실시예 및 비교예의 FTIR 측정 그래프이다.

도 10은 본 발명 실시예 및 비교예의 PO4-FTIR 측정 그래프이다.

도 11은 본 발명 실시예 및 비교예의 FTIR 측정 그래프이다.

도 12는 본 발명 실시예 및 비교예의 XRD 측정 그래프이다.

도 13은 본 발명 실시예가 이산화탄소 환경에서 건조되었을 경우에 변화하는 XRD 패턴의 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0048]

이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

[0049]

본 발명은 먼저, 결합조절물질에 의해 담체물질 매트릭스-칼슘-인산 사이의 특이적인 유기-무기 상호작용을 이끌어내는 골 조성물의 제조방법을 제공한다. 상기 유기-무기 상호작용 및 미네랄화(mineralization)로 인하여 본 발명의 제조방법에 따라 제조된 골 조성물은 뼈와 매우 유사할 뿐만 아니라 현저히 높은 강도특성을 보유하게 된다.

[0050]

더욱 상세하게, 본 발명에 따른 골 조성물의 제조방법은 이산화탄소 비함유 분위기에서, 칼슘 수용액; 인산; 담체물질; 및 결합조절물질;의 혼합물을 공침시키는 단계를 포함하는 것을 특징으로 한다. 상기 공침 중 에서 담체물질 매트릭스-칼슘-인산 사이의 특이적인 유기-무기 상호작용이 일어나는 것이며, 이로써 구현된 구조 및 분자특이적인 양상(실시예로써 더욱 후술하겠지만, 본 발명에서 공침 과정에서 나타나는 특이적 양상을 미네랄화(mineralization)라 통칭하기로 한다)에 따라 본 발명에 따른 골 조성물은 종래대비 현저히 우수한 강도특성 및 다공성 등의 골유사성을 나타내는 것이다.

[0051]

또한, 상기 이산화탄소 비함유 분위기란, 당업계 통상적 지식과 같이 반응 공정 중에서 이산화탄소가 반응 또는 접촉하지 않는 분위기, 즉 질소 분위기, 불활성기체 분위기 또는 진공 상태임을 의미할 수 있다. 본 발명에 따라 제조공정 중 이산화탄소가 포함되거나, 접촉되거나 또는 반응하지 않음으로써, 추후 체내에 이식되었을 경우야야 비로소 탄산화 및 체내안정화되는, 종래 미구현의 특징을 보유하고 있는 골 조성물을 제조할 수 있는 것이며, 따라서 상기 이산화탄소 비함유 분위기는 본 발명의 일 특징을 구현할 수 있는 필요불가결한 조건이라 할 수 있다. 단, 상기 이산화탄소 비함유 분위기는 질소분위기, 불활성기체 분위기 또는 진공 상태뿐만 아니라 여타의 다른 방법에 의해서 구현될 수도 있는 바, 본 발명은 상기 명시된 대기 조건들에 의해서 한정되지는 아니한다.

[0052]

상기 공침 단계에서는 또한, 칼슘과 인산의 상호작용으로 인한 Ca-P화합물이 생성된다. 이러한 화합물은 β -트리칼슘포스페이트, 무수 디칼슘 포스페이트(CaHPO_4 , DCPA), 테트라칼슘 디하이드로겐 포스페이트 ($\text{Ca}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$, TTCP), 하이드록시아파타이트(HAp) 또는 디칼슘 포스페이트 디하이드레이트($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, DCPD)일 수 있는데, Ca-P화합물, 담체물질, 그리고 결합조절물질의 바람직한 유기-무기 상호작용 및 미네랄화를 이끌어내어 전술한 다공성 및 높은 기계적 강도를 구현하는 데에는 상기 Ca-P화합물 중 하이드록시아파타이트(이하, HAp)가 주성분인 것이 가장 효율적이며, 따라서 본 발명에 따른 골 조성물의 제조공정은 pH 6.5 내지 8.5에서 수행되는 것이 바람직하다는 것을 본 발명자는 안출한 것이다.

[0053]

도 1에는 과포화된 칼슘 및 인산이 상호작용하여 Ca-P화합물을 형성할 때, pH 조건에 따라서 달라지는 Ca-P화합물의 주 수득물질이 도시되어 있다. 도시된 바와 같이, 칼슘이 과포화된 칼슘 수용액과 인산이 반응하여 Ca-P화합물이 합성될 때, pH 6.5~8.5인 경우에는 HAp가 주산물로 수득되고, pH 4.2~4.8의 범위에서는 β -TCP, HAp, 옥타칼슘 포스페이트(OCF), α 트리칼슘포스페이트(α -TCP) 및 테트라 칼슘 포스페이트(TTCP)의 혼합상이 형성되며, pH 4.2 이하에서는 디칼슘 포스페이트 디하이드레이트($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, DCPD)가 가장 안정한 상으로서 최다량 형성된다. 즉, 본 발명에 따른 제조방법을 실시함에 있어서, pH는 6.5~8.5인 것이 가장 바람직하다. 아울러 이에 제한되지는 않으나, 상기 칼슘 수용액은 준비된 산화칼슘(CaO)의 용해에 의해 제조된 것일 수 있다.

[0054]

본 발명에 따른 골 조성물의 제조방법은 상기 Ca-P화합물이 합성되는 단계를 포함한다. 즉, 칼슘과 인산이 상호작용하여 Ca-P화합물이 합성되는 단계; 및 상기 Ca-P화합물, 담체물질, 및 결합조절물질이 상호작용하여 복합체상의 골 조성물이 공침되는 단계;는 각각 동시에, 또는 순차적으로 일어날 수 있고, 상기에서 명시한 '칼슘 수용액; 인산; 담체물질; 및 결합조절물질;의 혼합물을 공침시키는 단계'란 이들 모두를 포함하는 개념으로 이해되어야 할 것이다.

- [0055] 상기 담체물질은, 바람직하게는 섬유상 매트릭스를 형성할 수 있는 단백질, 더욱 바람직하게는 젤라틴, 콜라겐, 콘드로이친황산 또는 글리코사미노글리칸일 수 있고, 결합조절물질은 바람직하게는 음이온성 고분자(macromolecule), 더욱 바람직하게는 키토산, 텍스트린, 폴리비닐 아크릴레이트(PVA), 폴리아크릴아마이드(PAA) 또는 폴리메틸 메타크릴레이트(PMMA)일 수 있다. 그러나 이들 소재의 선택은 어디까지나 예시에 불과한 것으로서, 상기 공침 반응 중 유기-무기 상호작용에 의하여 생체 뼈와 유사한 분자구조 및 물리구조를 구현할 수 있는 것이라면 본 발명을 제한하지 않는다.
- [0056] 상기 결합조절물질은, 상기 담체물질 매트릭스에 함입되어 이에 음이온성 잔기를 도입하는 역할을 한다. Ca-P 화합물 및 담체물질이 유기-무기 상호작용하여 다공성 구조를 형성하면서 경화되는 미네랄화(mineralization) 과정에 있어서, 담체물질에 도입된 음이온성 잔기는 상기 미네랄화를 더욱 촉진하는 역할을 수행하며, 이로써 신속하게 경화된 본 발명에 따른 골 조성물은 공침 중 입자의 밀도가 필요 이상으로 높아지기 이전에 경화되어 바람직한 다공성 및 높은 강도특성을 보유하게 되는 것이다. 이러한 미네랄화 과정에 관련하여, 본 발명을 재현 또는 구현하는 온도로서는 35 내지 50 °C인 것이 바람직한데, 이는 온도 역시 상기 미네랄화 과정에 따라 형성되는 골 조성물의 결정화에 영향을 끼치는 요소이기 때문으로, 50 °C 를 초과하는 온도에서는 결정성이 지나치게 높아져 만족스러운 만큼의 다공성을 획득할 수 없고, 35°C 미만의 온도에서는 반대로 결정성이 지나치게 떨어져 입자간의 간격이 너무 짧아져, 이 역시 만족스러운 만큼의 다공성을 획득할 수 없게 된다.
- [0057] 본 발명 중 공침 단계에서의 혼합물은 슬러리 또는 현탁액의 양상을 나타내고, 이들이 모두 가라앉아 상청액이 형성된 상태의 수득물을 여과 또는 건조함으로써, 분말 또는 고형물 상으로 본 발명에 따른 골 조성물을 이용할 수도 있다는 것은 주지의 사실이므로 건조 또는 여과 공정에 대한 설명은 생략하기로 한다.
- [0058] 상기와 같은 방법에 의해 제조된, 본 발명에 따른 골 조성물은 전술한 특징들에 따라 Ca 및 P를 포함하는 화합물(즉, Ca-P 화합물); 담체물질; 및 결합조절물질;을 포함하고, 체내에 이식되었을 때 체액에 의해 탄산화되는 것을 특징으로 한다.
- [0059] 부정비형(nonstoichiometric) 아파타이트를 인공골의 재료로 사용하는 경우에, 합성 중에 이산화탄소(CO₂)가 존재한다면 아파타이트 생성 및 유기물과의 결합반응 중 CO₃²⁻ 기로 아파타이트 결정구조 내로 들어가게 되고, 이는 이후 아파타이트 복합체의 강도를 늘리는 반면 안정화를 이루어 골융해성을 현저히 떨어트린다. 즉, 인체골로 골화합물이 융합되고 나서는(이식 시술이 이루어진 이후에는) 이 반응이 물성적인 측면에서 바람직하나, 인체골과 융합되기 전에는 이산화탄소와 반응하지 않는 것이 좋다. 본 발명에서는 이를 고려하여, 제조과정 중에 CO₂ 비함유 분위기를 부여함으로써 CO₃²⁻ 기가 인공골 중에 융합되어있지 않는 인공골 제조시스템을 개발한 것이다.
- [0060] 제조과정 중의 화학적 조성이 그대로 유지되는 공침 공정의 특성에 따라, 이들 구성성분에 대한 상세한 설명은 전술된 것으로 같음하기로 한다. 단, 본 발명을 재현 또는 구현하려는 자는, Ca 및 P를 포함하는 화합물(즉, Ca-P 화합물); 담체물질; 및 결합조절물질; 사이의 조성비를 임의로 설정할 수 있으나, 결합조절물질의 함량이 지나치게 높아질 경우에는 생체 내에 이식하였을 때 염증 반응을 불러일으킬 수 있으므로 그 함량은 1 내지 25 중량% 이내에서 실시되는 것이 바람직하다는 것을 유의하는 것이 좋다.
- [0061] 본 발명에 따른 골 조성물은, 1) 체내에 이식되었을 경우 체액 내 탄산과 접촉하여 탄산화 및 화학적 안정화되고, 2) 포함하는 분자들 사이의 독특한 상호작용에 의해서 매우 높은 기계적 강도를 제공하며, 3) 생체 뼈와 유사한 다공성을 제공함으로써, 이식 시술 등의 구체적 응용에 있어서 매우 효율적이고 높은 골재생성(osteoconductivity)을 제공함을 특징으로 한다. 따라서 본 발명에 따른 골 조성물이 특히 인공골에 포함되었을 경우, 그 인공골은 골절 또는 골성장 장애 등의 골질환을 치료하는데 있어 현저히 개선된 신소재로 이용될 수 있다.
- [0062] 이하, 바람직한 실시예를 들어 본 발명을 더욱 상세하게 설명하기로 한다. 그러나 이들 실시예는 어디까지나 예시에 불과한 것으로, 본 발명이 이들에 의해서 제한되지 않는다는 것은 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 자명할 것이다.
- [0063] **제조예 : 산화칼슘(CaO), 칼슘 수용액 및 인산의 제조**
- [0064] CaCO₃를 1050 °C에서 공기 중 2 시간 이상 하소하여 CaO 분말을 얻었다. 이를 300 °C까지 서냉한 후 이산화탄소

비함유 분위기의 3구 플라스크로 옮겨 스테어링 바와 스테어링 챔버를 이용하여 혼련시켰다. 여기에 2차 증류수를 서서히 첨가하였다. 이에 따라 일어나는 격렬한 발열반응의 시간 경과, 첨가되는 증류수의 양 및 속도에 따라 반응기 내부 온도가 변화하였다. 실시예의 실행 두 시간 전부터 이 생석회 분해반응을 진행하여 충분한 양의 Ca^{2+} 자유이온 및 OH^- 자유이온이 용해된 수용액을 제조하였다.

[0065] 상기 3구 플라스크의 이산화탄소 비함유 분위기는 N_2 가스의 퍼징(purging) 및 KOH를 통과하여 탈탄산화된 공기의 주입으로 이루어졌다. 즉, CaO를 3구 플라스크에 옮긴 후 바로 고무마개를 닫은 뒤, 마개에 연결된 호스와 Schlenk line 을 이용하여 질소가스로 3 회 이상 퍼징하였고, 이어서 KOH 플라스크를 통과시킨 공기를 공급하였다.

[0066] 또 다른 3구 플라스크용기에 적정량의 H_3PO_4 용액을 투입하고 초순수증류수로 채운 후, 연결된 에어호스를 앞서와 마찬가지로 질소퍼징한 뒤 KOH 플라스크를 통과시킨 공기가 공급되는 호스와 연결하였다.

[0067] **참고예 1:**

[0068] 도 2에는 본 발명의 참고예 또는 실시예에 따른 제조공정의 모식도가 도시되어 있고, 도 3에는 이러한 제조공정에 사용된 기재들의 이미지가 도시되어 있다.

[0069] 도시된 바와 같이, 스테어링 챔버에 연결되며, 질소 퍼징 이후 CO_2 -free 공기가 채워진 메인 반응용기를 칼슘 수용액이 담긴 용기 및 인산이 담긴 용기에 연결한 뒤(칼슘 수용액과 인산의 농도 및 용량은 생성되는 HAp가 약 10 g 이 되도록 계산되었으며), 이들 용액을 Masterflex 펌프 및 실리콘 튜브를 이용하여, 상기 메인 반응용기에서 혼합하였다. 이들 혼합상의 pH를 7.5로, 온도를 약 37 °C로 유지하면서 침전반응을 진행한다. 침전반응으로 미세한 나노침전물이 형성되고, 칼슘 수용액 또는 인산이 다 소모되면 메인 반응용기의 온도를 37 °C로 유지하되 약 24 시간 동안 방치시켜 침전물과 상청액으로 분리시켰다. 다음으로, 침전물을 여과한 뒤 25 °C 및 이산화탄소 비함유 분위기에서 약 6 시간 동안 건조시켜 케이크(cake) 상의 침전물을 형성한 뒤, 이를 분쇄하여 골 조성물을 제조하였다.

[0070] **참고예 2:**

[0071] 메인 반응용기에서 CO_2 -free 공기 대신 일반 공기를 흘리는 것과, 건조 과정에서 일반 공기 분위기 하에서 수행하는 것을 제외하고 참고예 1과 동일하게 골 조성물을 제조하였다.

[0072] **실시예 1: 골 조성물의 제조**

[0073] 참고예 1에서 메인 반응용기에 혼합되는 인산 용액에 젤라틴 분말이 2 g, 키토산 분말이 1 g을 용해시킨 것을 제외하고는, 참고예 1과 동일하게 실시예 1 골 조성물을 제조하였다.

[0074] **실시예 2**

[0075] 인산 용액에 젤라틴 분말 3 g 및 키토산 분말 0.1 g이 사용된 것을 제외하고는, 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 실시예 2를 제조하였다.

[0076] **실시예 3**

[0077] 인산 용액에 젤라틴 분말 3 g 및 키토산 분말 0.3 g이 사용된 것을 제외하고는, 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 실시예 3을 제조하였다.

[0078] **실시예 4**

- [0079] 인산 용액에 젤라틴 분말 3 g 및 키토산 분말 0.5 g이 사용된 것을 제외하고는, 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 실시예 4를 제조하였다.
- [0080] **실시예 5**
- [0081] 인산 용액에 젤라틴 분말 3 g 및, 키토산 대신 콘드로이친황산 분말 0.5 g이 사용된 것을 제외하고는, 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 실시예 5를 제조하였다.
- [0082] **비교예 1**
- [0083] 인산 용액에 젤라틴 분말이 2 g 은 첨가하되, 키토산 분말이 첨가하지 않은 것을 제외하고는, 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 비교예 1을 제조하였다.
- [0084] **비교예 2**
- [0085] 인산 용액에 젤라틴 분말이 2 g 은 첨가하되, 키토산 분말이 첨가하지 않은 것을 제외하고는, 상기 참고예 2과 동일한 방법으로 비교예 1을 제조하였다.
- [0086] **비교예 3**
- [0087] 인산 용액에 젤라틴 분말 3 g 및 키토산 분말 0.1 g이 사용된 것을 제외하고는, 상기 참고예 2와 동일한 방법으로 비교예 3을 제조하였다.
- [0088] **비교예 4**
- [0089] 인산 용액에 젤라틴 분말 3 g 및 키토산 분말 0.5 g이 사용된 것을 제외하고는, 상기 참고예 2와 동일한 방법으로 비교예 4를 제조하였다.
- [0090] **비교예 5**
- [0091] 인산 용액에 젤라틴 분말 3 g 및, 키토산 대신 콘드로이친황산 분말 0.5 g이 사용된 것을 제외하고는, 상기 참고예 2와 동일한 방법으로 비교예 5를 제조하였다.
- [0092] **시험예 1: 열적 분석(Thermal Analysis)**
- [0093] 상기 실시예 1 및 비교예 1에 대한 열적 분석(TG-DTA TG8120, USA)이 수행되었다. 상기 열적 분석은 대기조건 및 백금 판 위에서, 25 내지 1100 °C의 온도에서 10 °C/min의 속도로 승온하였다.
- [0094] 도 4는 실시예 1 및 비교예 1의 TG-TGA 패턴을 보여준다. 발열성 피크 이후, 80 °C 가량의 온도에서 흡열성의 피크가 관찰되었다. 300~550 °C에서는, 온도 증가에 따라 실시예 1 및 비교예 1의 유기 단위체(component)가 분리되었다. 790 °C 이상에서는 HAp의 탄산염으로부터 이산화탄소가 방출되었다. 도시된 바와 같이, 320 °C 및 351 °C에서 열분해에 의한 질량 변화가 현저히 나타나는 비교예 1에 비해 키토산이 추가된 실시예 1의 경우는 그 온도가 347 °C 및 362 °C로서, 이는 실시예 1이 비교예 1에 비해 추가적인 결합력을 포함하고 있었음을 시사한다. 이는 TEM, SEM 이미지 및 FTIR 분석을 통해 추가적으로 토의될 수 있다.
- [0095] **시험예 2: 마이크로 이미지**
- [0096] 상기 실시예 1의 골 조성물을 전자현미경(JEOL, Japan)으로 촬영하였다.
- [0097] 도 5 및 도 6에는 실시예의 TEM 이미지가 도시되어 있다. 도시된 바와 같이, 도 5에서는 실시예 1 구성 성분 간

의 마이크로 단위 복합 네트워크가 관찰되었다. 도 5의 확대된 이미지인 도 6에서는, 상기 네트워크가 바늘 형태의 HAp 결정상으로서 형성된 것이고, 상기 결정상은 너비가 약 3 나노미터, 길이는 약 20 나노미터임을 확인할 수 있다. 이러한 나노 단위 결정상의 복합 네트워크 구조체는 실시예의 더욱 높은 강도를 시사한다.

[0098] **시험예 3: 분산 반사도 FTIR**

[0099] 실시예 내 HAp, 젤라틴 및 키토산 사이의 유기-무기 상호작용은 FTIR에 의해 더욱 분석되었다. 또한, 젤라틴 및 키토산 사이에서의 유기-유기 상호작용은 GRAMS AI(7.0)에 기반한 FTIR에 의해 분석되었다. 먼저, 실시예에 분산 반사도 FTIR(Magna 750R, Nicolet, U.S.A) 법을 시행하였다.

[0100] 참조로써, 키토산 단독분자 FTIR의 경우 도 7에 도시된 바와 같이 3450~3100 cm^{-1} 의 넓은 OH 스트레칭 흡수 밴드, 그리고 2990~2850 cm^{-1} 의 지방족 C-H 스트레칭 흡수 밴드가 나타난다. OH 스트레칭 밴드와 지방족 C-H 스트레칭 밴드가 나란히 늘어서 있는 부분에서 볼 수 있듯, 이는 3450~2850 cm^{-1} 범위의 넓은 스펙트럼이다. 또 다른 주 흡수 밴드인 1220~1020 cm^{-1} 는, 키토산의 주 작용기인 글루코사민 C2 위치에서의 자유 프라이머리(primary) 아미노 그룹(-NH₂)을 나타낸다. 1647 cm^{-1} 위치에서의 피크는 키틴의 아세틸화된 아미노 그룹을 나타내며, 이는 키토산 샘플이 완전히 탈아세틸화되지는 않았음을 시사한다. 1384 cm^{-1} 위치에서의 피크는 프라이머리 알코올 그룹(-CH₂-OH)의 C-O 스트레칭을 나타낸다.

[0101] 도 8은 실시예들은 비교예 1과 비교적 유사한 FTIR 스펙트럼을 나타낸다. 그러나 국소적 및 상세적으로 관찰된 결과로써, HAp, 젤라틴 및 키토산 사이의 유기-무기 상호작용을 설명할 수 있다.

[0102] 도 9(도 8의 확장 스펙트럼)에 도시된 바와 같이, 아마이드 I, II, III 밴드들이 실시예들 및 비교예 1에서 발견된다. 비교예 1의 1335 cm^{-1} 밴드는 Ca-COO- 복합체의 공명을 시사하는 스펙트럼 패턴이다. 이는, 프롤린 사이드 체인이 HAp와 공유 결합을 형성하면서 발견되는 세로 진동에 기인한 것이다. 또한 젤라틴을 포함함으로써 1339 cm^{-1} 에서 공통적인 밴드가 나타내고, 이 밴드는 HAp-젤라틴 조성물의 적색 편이(red-shift) 현상을 시사한다. 젤라틴 1339 cm^{-1} 에서의 낮은 화학적 쉬프트는, 젤라틴 분자에 결합된 매우 작은 HAp 결정에 기인된 것으로, 결국 프롤린 사이드 체인의 낮은 에너지 진동(wagging)을 시사한다.

[0103] 실시예들의 밴드 피크는, 도 9에 도시된 바와 같이 1339.4 cm^{-1} 로 나타나며, 이는 키토산 및 젤라틴 매트릭스 사이의 강한 유기-유기 상호작용을 나타낸다. 즉, 이러한 관찰 결과는 젤라틴과 키토산에 의해 고분자 복합체 매트릭스로서 HAp/젤라틴-키토산 나노조성물이 제조되었음을 확인시킨다.

[0104] 실시예의 경우, 키토산의 포함으로 인하여 공침 반응이 진행되는 동안 Ca²⁺와 상호작용하는 더 많은 양의 카보닐기가 존재하게 된다. 이로써 실시예들의 아마이드 I 및 II 스펙트럼 밴드는 비교예 1에 비해 더 현저하게 나타난다. 실시예들의 아마이드 II 밴드 스펙트럼은 1547 및 1512 cm^{-1} 에서 나타났으며, 이는 보다 복잡하고 섬세한 양상으로서 젤라틴-키토산 사이의 유기-유기 상호작용을 시사한다.

[0105] 이는 또한 도 10의 P04 스펙트럼으로써 설명될 수도 있다. P04 v3 및 v1 스펙트럼은 HAp 또는 HAp 포스페이트에 기인된 밴드들과 연관된다. 실시예의 P04 v3로 나타나는 부드러운 스펙트럼 패턴은, HAp 단독샘플 또는 비교예 1에 비해 더욱 많은 양의 조직적 반응을 시사한다.

[0106] 0.1 g의 키토산을 3 g의 젤라틴 매트릭스에 첨가한 실시예 2의 경우에도, 젤라틴과 키토산 사이의 유기-유기 상호작용은 상당히 강력하였다. 젤라틴 분자 내에 포함된 키토산 및 이들의 결합은 매우 높은 수준으로 조직된 HAp 샘플을 결과한다.

[0107] 도시하지는 않았으나, 실시예의 부드러운 스펙트럼은 키토산을 제외하고 5 g의 젤라틴을 이용한 샘플과 매우 흡사하다. 수득 과정 중에 나타나는 슬러리의 양상은 매우 끈적하였으며, 건조되었을 경우 매우 좋은 강도 특성이 나타났다. 도 9에 도시된 CO3 v3 및 v1의 밴드에서 볼 수 있듯이, 실시예는 비교예 1에 비하여 훨씬 덜 탄산염화되었으며, 이는 공침반응 중 HAp 및 젤라틴-키토산 매트릭스 사이의 높은 활성 상호작용과 함께 HAp의 더 낮은 탄산염화를 시사한다.

- [0108] 즉, 공침과정 중에서 유기-무기 상호작용이 매우 활성화되고, 이는 젤라틴-키토산 사이의 유기-유기 상호작용으로 인해 더욱 강화되는 것으로 생각된다. 젤라틴-키토산 사이의 유기-유기 상호작용은 화학적으로 Ca^{2+} 및 인산과 상호작용하여 HAp를 형성하는 데에도 더욱 긍정적인 효과를 끼친다.
- [0109] 실시예에서 명시한 바와 같이, 공침을 시행하기 전에 37 °C의 H_3PO_4 의 수용액에 젤라틴 분말 및 키토산 분말을 용해시켰다. 용해가 진행되는 동안, 젤라틴과 키토산 분자가 인산화되면서 이들 사이의 분자 네트워크가 형성되었다. 인산화 및 복합화된 분자들은 HAp 첨가에 의한 미네랄화를 위한 매트릭스가 된다.
- [0110] HAp의 공침 반응이 진행되는 동안, HAp의 Ca-P 이온성 클러스터들은 화학적으로 결합된 젤라틴-키토산 분자들과 복합화한다. 이로써, HAp/젤라틴-키토산 나노조성물이 제조된다.
- [0111] 도 10에서는, HPO_4^{2-} 밴드 스펙트라의 세기가 HAp에서 상대적으로 강하고, 비교예 1에서는 보통 수준이며, 실시예 1 내에서는 매우 약하다는 것을 알 수 있는데, 이는 HPO_4^{2-} 및 젤라틴-키토산 매트릭스 사이에 활발한 화학적 반응이 진행되었음을 시사한다.
- [0112] 증류수에 H_3PO_4 를 용해시키는 동안, 3-양성자성 인산이 역학적으로 형성된다(모노베이직(H_2PO_4^-), 바이베이직(HPO_4^{2-}) 또는 트라이베이직(PO_4^{3-}) 인산염). 이러한 염기성 이온들은 젤라틴 고분자 내 아마이드의 사이드 체인과 상호작용한다.
- [0113] 키토산은 설페이트 사슬에 카복실 그룹을 포함한다. 따라서 Ca^{2+} - COO^- 결합 형성을 위한 상호작용이 일어날 수 있다. 이는 1339.4 cm^{-1} 밴드에서 관측되며, 결과적으로 Ca-COO 결합을 나타낸다. 실시예 1의 1339.4 cm^{-1} 밴드는 비교예 1에 비해 매우 강하다.
- [0114] 통상적으로 903 cm^{-1} 에서의 HPO_4^{2-} 밴드는 미네랄화 과정 중 OCP(옥타칼슘 포스페이트)의 존재를 시사한다. 비교예 1 샘플은 FTIR 및 TEM 관찰로써 HPO_4^{2-} 밴드 스펙트라와 OCP 이미지를 보인다. 반면, 실시예 1의 경우 OCP는 관찰되지 않았다. 이는, 젤라틴의 분자 구조는 키토산에 의해 촉발된 유기적인 상호작용에 의해 조절되고, 증류수 내 단일 이온성의 Ca^{2+} 가 젤라틴 및 키토산 분자에서 유래된 COO^- 부위와의 상호작용에 의해 매우 빠르게 소비되며, HAp가 PO_4^{3-} 과의 반응에 의해 형성되고, 반응속도론적으로 Ca-P로써 HPO_4^{2-} 생성되지 않기 때문이다. 이것은 인산용액 중 활성화된 젤라틴 및 키토산 분자 사이 유기-유기 상호작용의 또 다른 증거이다.
- [0115] 도 11은 실시예 1 및 비교예 1의 또 다른 FTIR 스펙트라이다. 이는 PO4 스펙트라 패턴이 키토산 도입에 의해 매우 크게 변화하였다는 점으로써 주목된다. 즉, 1 g의 키토산으로 인하여 2 g의 젤라틴 매트릭스 분자가 화학적으로 합입 및 연결되었고, 이로써 PO4 패턴은 매우 잘 조직된 나노조성물을 형성하였음을 관찰할 수 있다. 즉, HAp/젤라틴-키토산 매트릭스는, 잘 조직화된 Ca-P 상의 증거로서 부드러운 FTIR 패턴을 유발하였다.
- [0116] **시험예 4: X선 회절 패턴 분석**
- [0117] 도 12에 도시된 바와 같이, 키토산에 의해 조절된 HAp/젤라틴 나노조성물(실시예 1 내지 4)의 XRD 패턴은 비교예 1과 유사하다. 실시예들은 HAp와 젤라틴-키토산 매트릭스의 혼성 조성물이고, 그 패턴 중 (002) 피크의 쉬프트는 젤라틴과 키토산 고분자의 HAp 미네랄화에 의한 것으로 보인다. 표준 HA의 X-레이 분말 회절 패턴(Tucker et al 1996, Fig 5b)은 Joint Committee on Powder Diffraction Standards (JCPDS)의 File No. 9-432에 기록되어 있다.
- [0118] 잘 분석되어 날카로운 양상을 나타내는 회절 피크는 인회석 특유의 패턴을 일부 나타내는데, 이는 본 발명의 높은 결정도를 시사한다. 이들 피크는 헥사고각 시스템에 기반하여 색인되었다. 또한, 단위 파라미터는 색인된 피크들의 d-스페이싱을 이용하여 계산되었다.
- [0119] **시험예 5: 이산화탄소와의 반응**

[0120] 본 발명에 따른 실시예들은 모두 이산화탄소 비함유 환경에서 제조되어 CO_3^{2-} 를 포함하고 있지 않다. 이러한 화학적 특성으로써 본 발명에 따른 골 조성물은 체내에 이식되었을 경우에만 비로소 체액의 탄산 이온에 의해 탄산화되며, 전술한 바와 같이 아파타이트를 포함하는 본 발명에 따른 골 조성물은 탄산화와 동시에 안정화되어 더욱 높은 강도특성이 부여된다.

[0121] 상기의 기작을 증명하기 위해, 실시예 1에 따른 골 조성물을 이산화탄소를 포함하는 통상의 대기에 방치하고, 추가 건조하는 공정(가열 또는 비가열)을 수행하였다. 도 13에는 그 결과물의 XRD 패턴 그래프가 도시되어 있다.

[0122] 도시된 바와 같이, 이산화탄소와 접촉하지 않은 실시예 1에 비했을 때, 이산화탄소와 접촉 및 건조된 경우에는 26도 밴드 강도가 건조에 따라 비례적으로 증가하고 있다. 이는 본 발명에 따른 골 조성물이 CO_2 와 접촉하면 급격히 이를 흡수하여 탄산기가 함유된(CO_3^{2-}) 아파타이트상을 형성하며 안정화 및 강화됨을 시사한다.

[0123] 상기의 기작으로 인하여, 본 발명에 따른 골 조성물을 사용 전에 보관하는 경우에도 이산화탄소와의 접촉을 피해야 하고, 이산화탄소와의 접촉 및 반응은 이식시술 후 체내에서 이루어지는 것이 바람직하다.

[0124] 인공골용 골 조성물에 마이크로 사이즈의 다공질을 도입하기 위해서는 포함된 성분들 사이의 유기-유기 상호작용 및 유기-무기 상호작용을 적절히 조절해야 한다. 유기-무기 상호작용은 상기 나노조성물 중 강도 및 밀도의 조절에 영향을 끼치고, 유기-유기 상호작용은 매트릭스 유기체의 점도와 형성되는 다공질의 정도에 영향을 끼친다. 본 발명에 따라 이들을 조절하는 한편, 탄산이 비함유된 조성을 구현함으로써 더욱 나은 강도 및 다공질을 나타내는 골 조성물을 이용할 수 있다. 즉, 본 발명에 따른 나노구조물은 인공골로 이용될 경우에 현저히 우수한 강도특성을 나타내는 한편, 적절히 조절된 유기-유기 상호작용 및 유기-무기 상호작용으로 인해 생체 골과 유사한 분자 및 물리구조를 나타낸다.

[0125] **시험예 6: 압축강도**

[0126] 참고예 1 및 2, 실시예 2, 4 및 5, 비교예 1 내지 5의 골 조성물을 페이스트로 제조하고, 주사기를 이용하여 로드형 시편을 만들어 이를 자연건조 후 직경 1.9cm, 높이 3.3cm의 시편으로 가공하여 만능시험기[대산 ENG, DS-UTM-1000] Instron 10ton으로 압축강도를 측정하여 그 결과를 표 1에 나타내었다.

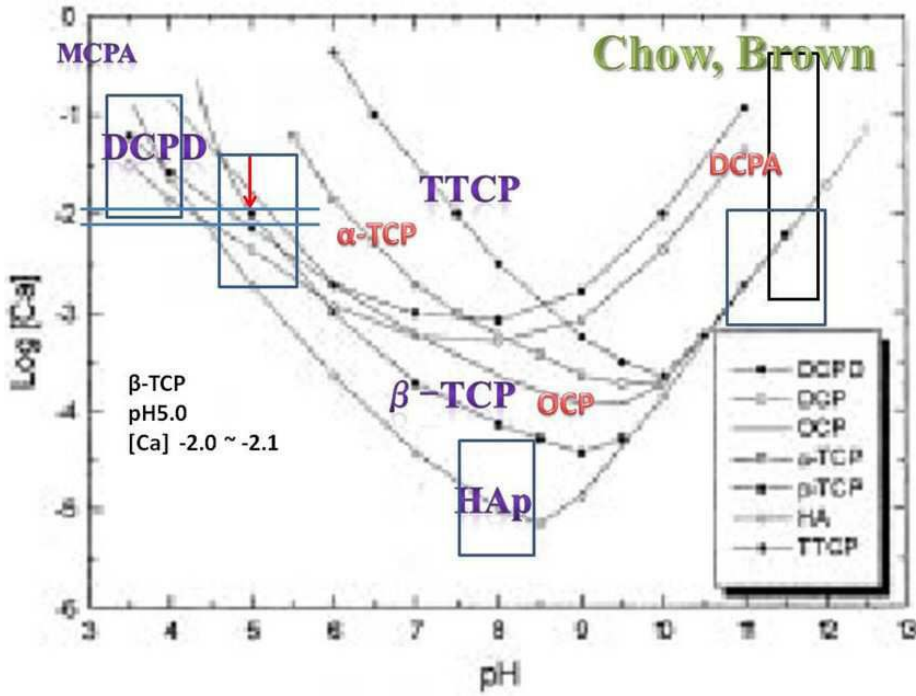
표 1

구분	분위기	젤라틴	키토산	콘드로이친	압축강도(MPa)
참고예1	CO2 free	미함유	미함유	미함유	0.4±0.2
참고예2	일반공기	미함유	미함유	미함유	0.2±0.2
실시예2	CO2 free	함유	함유	미함유	5.6±0.2
실시예4	CO2 free	함유	함유	미함유	7.8±0.2
실시예5	CO2 free	함유	미함유	함유	2.1±0.2
비교예1	CO2 free	함유	미함유	미함유	1.6±0.2
비교예2	일반공기	함유	미함유	미함유	1.0±0.2
비교예3	일반공기	함유	함유	미함유	2.5±0.2
비교예4	일반공기	함유	함유	미함유	4.5±0.2
비교예5	일반공기	함유	미함유	함유	1.9±0.2

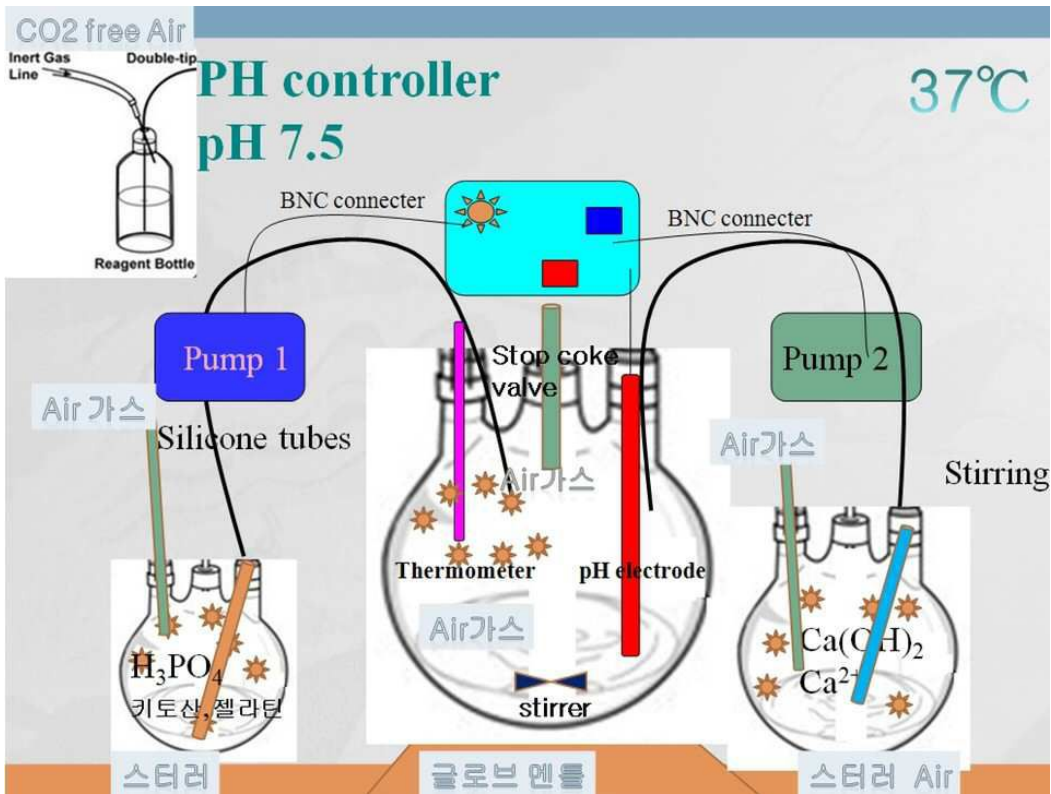
[0127]

도면

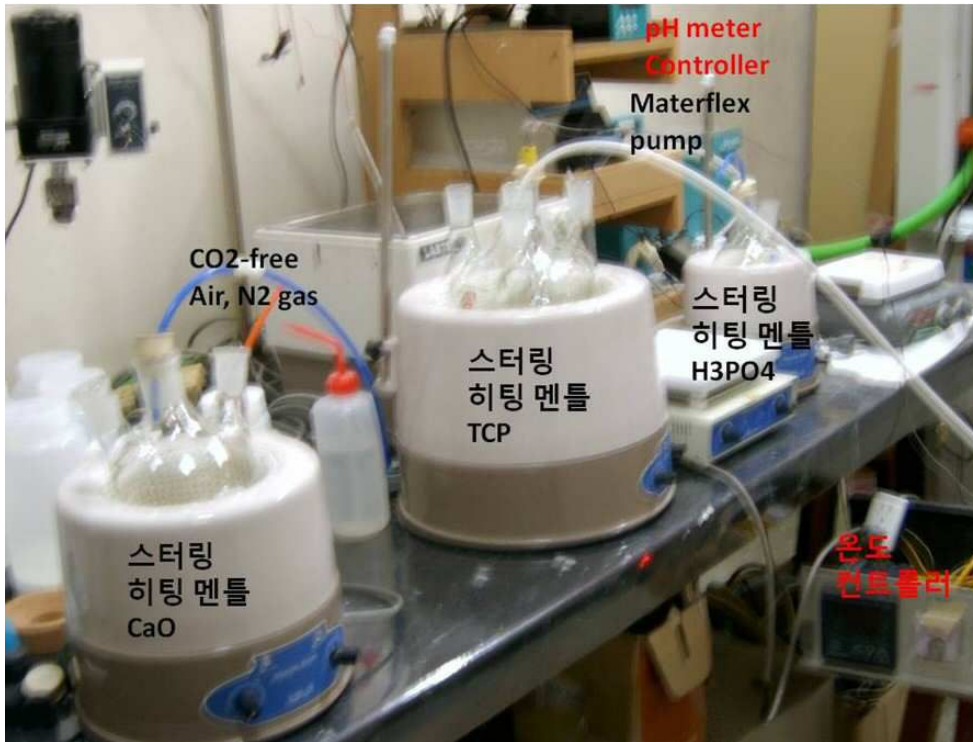
도면1



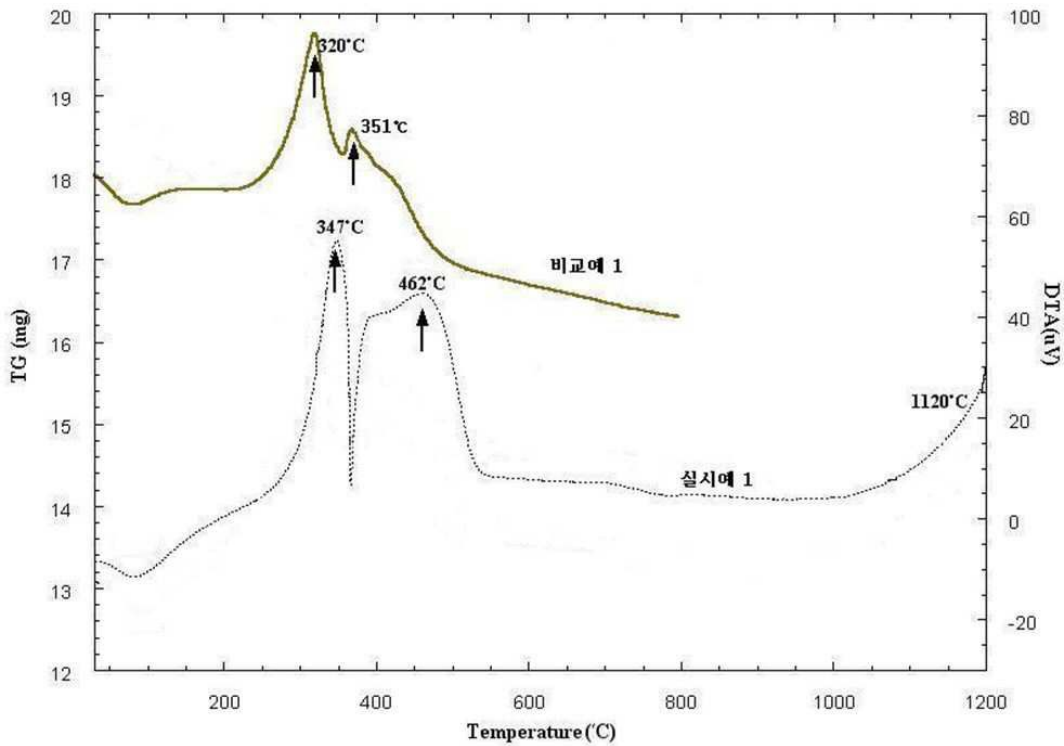
도면2



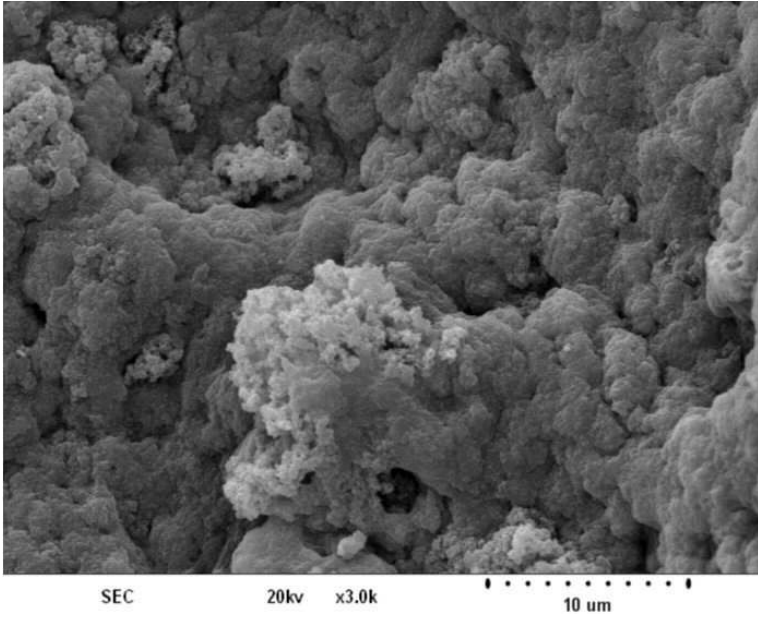
도면3



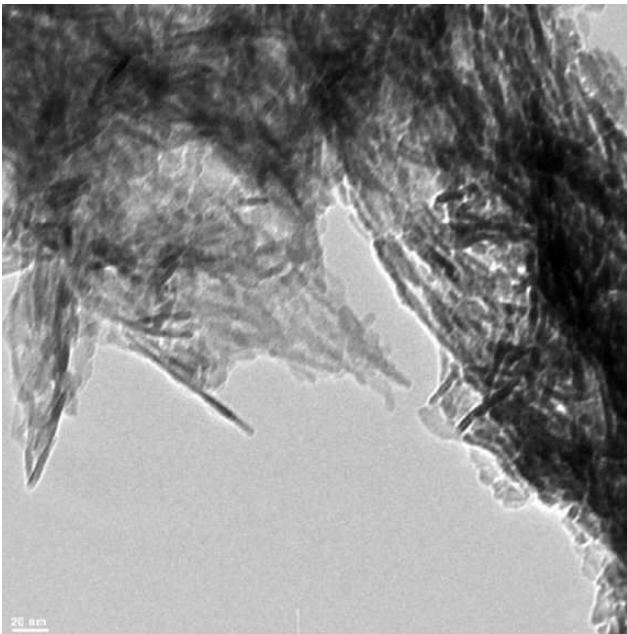
도면4



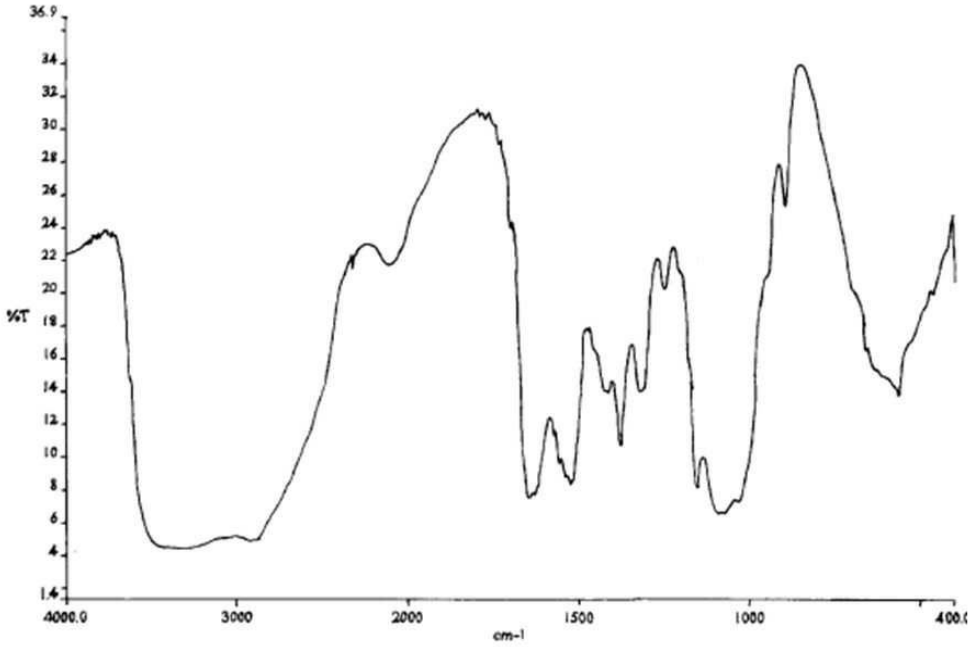
도면5



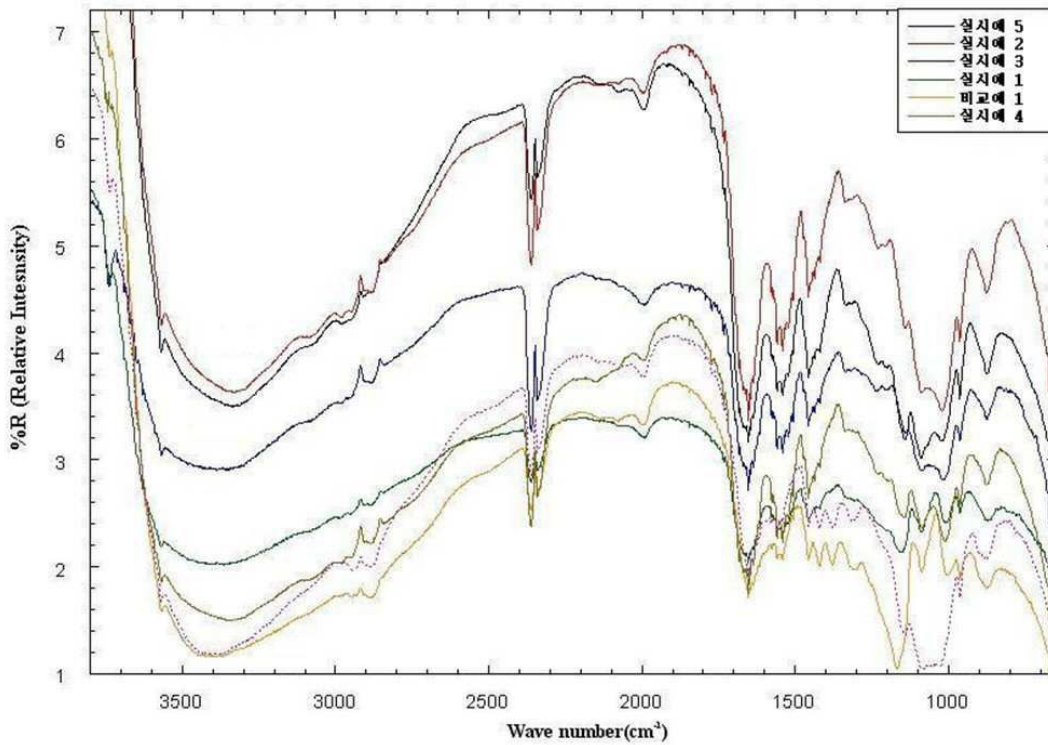
도면6



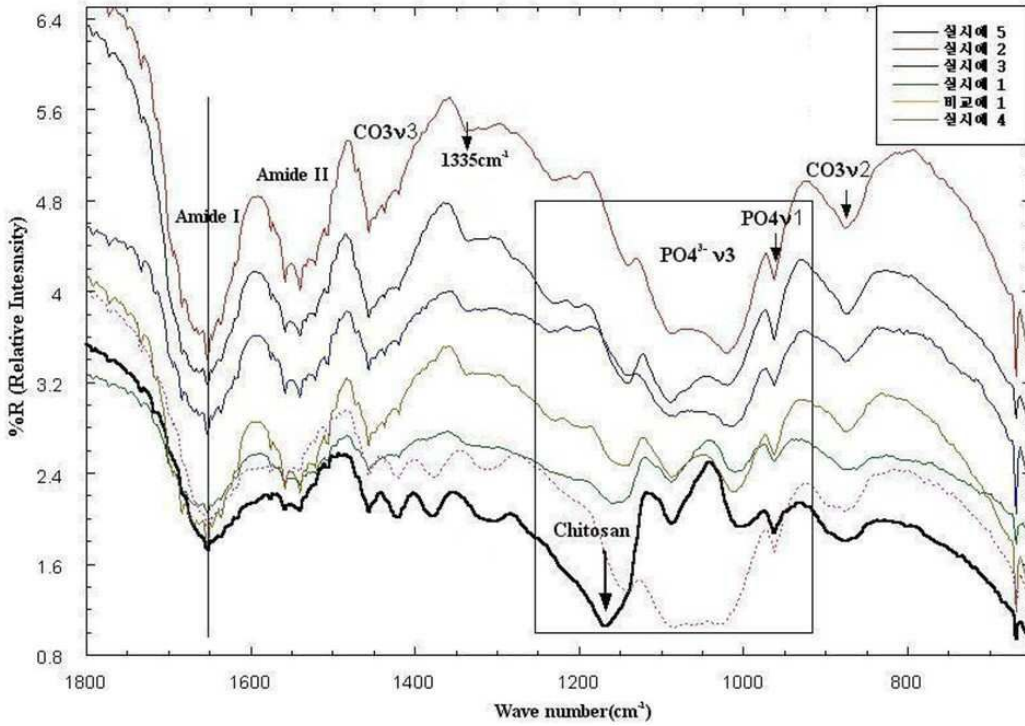
도면7



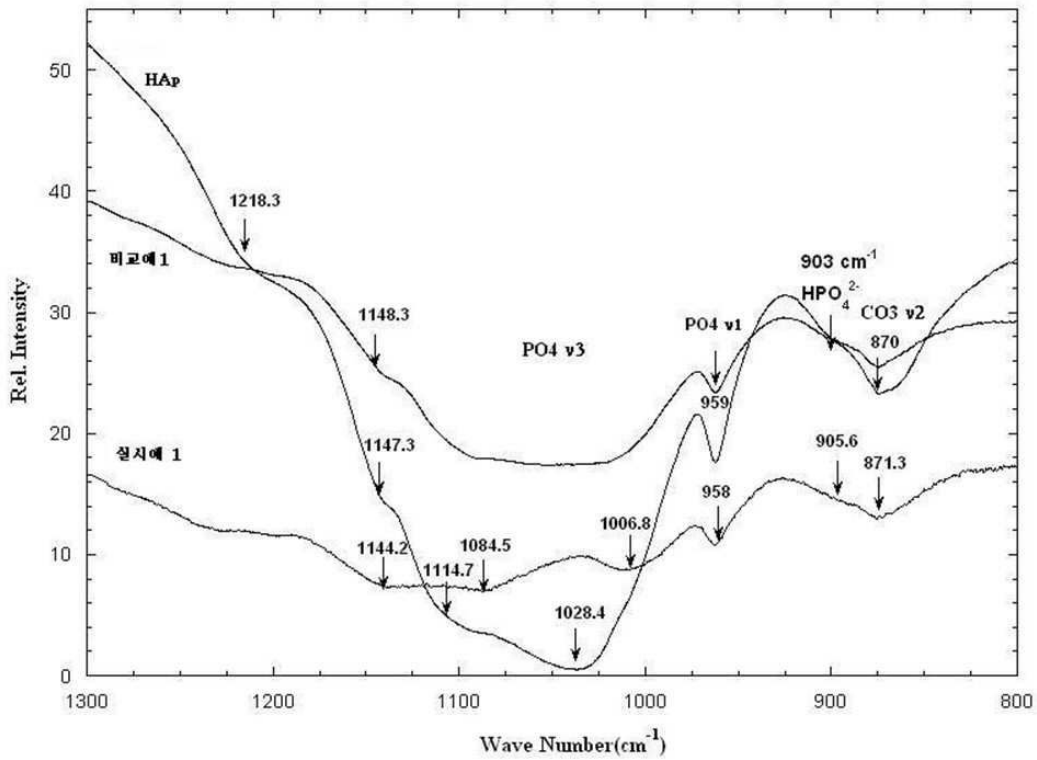
도면8



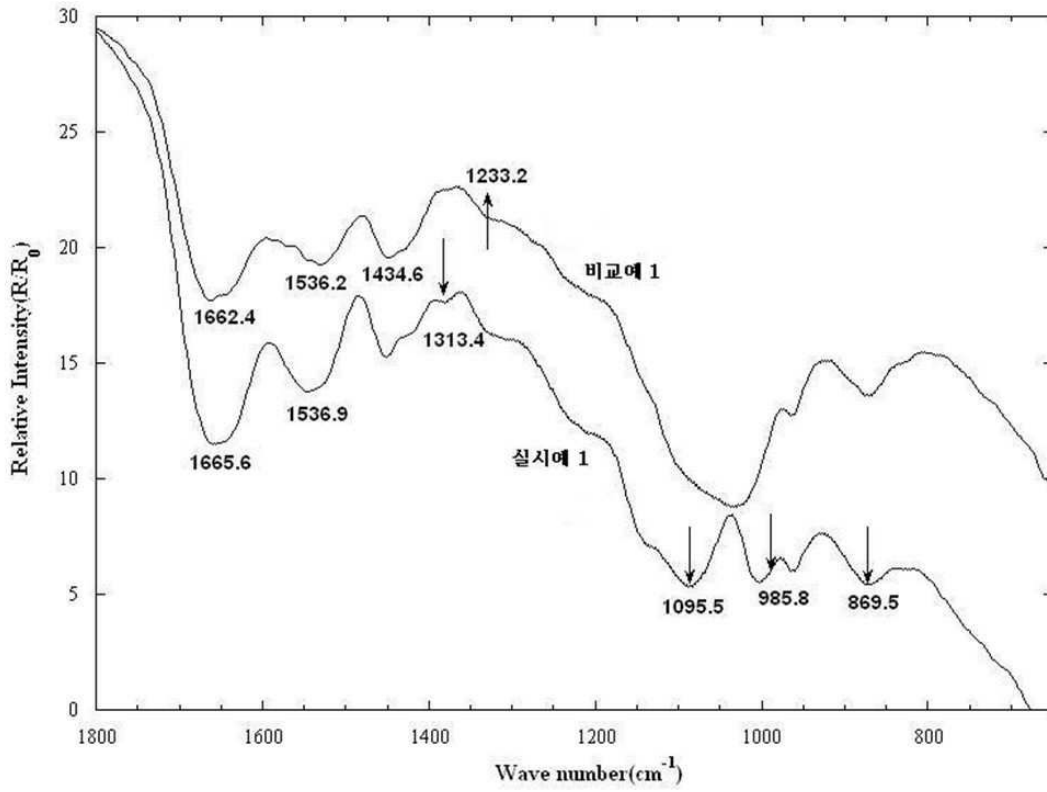
도면9



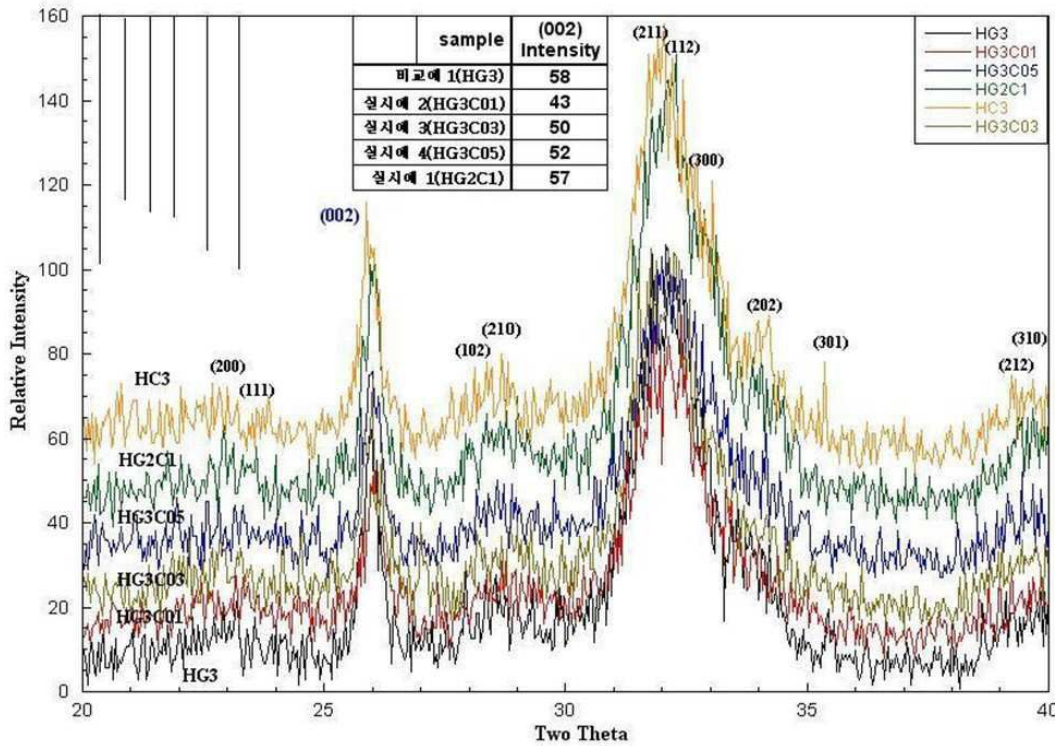
도면10



도면11



도면12



도면13

